

江苏省第三届生物光子学年会

3rd Congress for Jiangsu Biophotonics

Nanjing Jiangsu, December 27, 2008

# 论文集

江苏省生物医学工程学会  
医学生物光子专业委员会  
南京航空航天大学印制

## 目录

### 生物医学光子学

- 甲胺磷的荧光光谱研究·····毕琳娜, 陈国庆, 高淑梅等·····1
- 日落黄溶液的荧光光谱特性·····王 俊, 陈国庆, 武 浩, 等·····5
- 奶粉-三聚氰胺的荧光光谱特性研究·····杨成方, 张 峰, 刘 莹, 等·····10
- 饱和脂肪酸-乙醇溶液荧光光谱特性研究·····赵文艳, 杨成方, 李 雷, 等·····14
- 人 ER  $\beta$  绿色荧光蛋白真核表达载体的构建及其在 MCF-7 细胞中的定位  
·····李 慧, 顾月清·····18
- 用荧光光谱表征乙酸-水分子的缔合结构·····韩彩芹, 杨 洋, 骆晓森, 等·····21
- 乙醇和水溶液荧光光谱的导数和高斯分析·····吴 斌, 刘 莹, 骆晓森, 等·····25
- 小鼠稀释血液荧光光谱的高斯法研究·····杨 艳, 陈志清, 骆晓森, 等·····29
- 乙醇中毒血液荧光偏振特性研究·····刘 莹, 何文亮, 等·····34
- 竹红菌素混合物光谱特性研究·····熊 婕, 高淑梅, 陆 俊, 等·····38
- 近红外光谱技术监测高渗盐水治疗颅脑损伤中的应用·····狄广福·····41
- 近红外光谱技术实时无创组织参数测试系统相关研究·····刘 兴, 钱志余·····46
- 基于近红外光谱技术实时监测激光治疗肿瘤的研究·····王晋阳, 钱志余·····49
- The Discussion of Humoral Auto-fluorescence Spectroscopy for Early Diagnosis of Ovarian Cancer  
·····LU Jun, XIONG Jie, YANG You-Yi, GAO Shu-Mei·····54

### 生物医学信号检测与处理

- 立体定向导航手术系统·····官 伟, 钱志余·····58
- 无线通信技术在医疗监护中的应用综述·····潘 跃, 钱志余·····63
- 基于脉搏波的无创非袖带血压连续测量方法·····王新增, 闫玉娇, 李颍韬, 等·····68

### 生物医学成像及应用

- 水溶性近红外染料制备及体内成像研究·····安莲效, 顾月清·····73
- 叶酸偶联近红外染料复合物的制备及其对荷瘤裸鼠的成像研究··刘 飞, 顾月清·····76
- 低密度脂蛋白-近红外荧光染料复合物实时在位小鼠体内荧光成像  
·····陈新洋, 顾月清·····80
- 脂肪组织激光超声的数值计算研究·····吴素贞, 安荣荣, 骆晓森, 等·····85
- 帕金森大鼠模型的 MRI、MRA 及 CT 灌注成像的研究·····孙 涛, 钱志余, 杨天明, 等·····90
- fMRI 数据处理的方法研究·····黄 巍, 卢光明, 钱志余, 等·····94
- 核磁共振成像技术的发展以及对病灶的识别·····张 浩, 钱志余·····98

---

## 生物医学图像处理与可视化

改进的快速 ICA 算法及其应用	翁晓光, 钱志余	103
基于小波域邻域特征的医学图像融合技术	陈美玲, 陶玲, 钱志余, 等	108
基于 VTK 的 DICOM 图像读取与显示	徐玲, 钱志余, 陶玲, 等	111
CT 虚拟内窥镜原理与应用	王跃, 钱志余	114
医学图像三维可视化技术综述	朱晓芬, 陶玲	119
体绘制中传递函数设计综述	刘雯卿, 陈春晓, 吴佳妮	125
基于 VTK 显示多幅 DICOM 切片的方法	吴佳妮, 陈春晓, 刘雯卿	130

## 脑科学与神经工程

基于静息功能磁共振的大脑功能网络特性研究	成文莲, 钱志余, 卢光明, 等	134
基于 MRI 的帕金森病射频毁损术的实时监控和疗效评估	肖笛, 钱志余	140

## 甲胺磷的荧光光谱研究\*

毕琳娜, 陈国庆<sup>△</sup>, 王俊, 朱拓, 高淑梅

(江南大学理学院, 江苏无锡 214122)

**摘要:** 采用美国 Roper Scientific 公司的 SP-2558 多功能光谱测量系统, 对不同浓度的甲胺磷溶液在不同波长紫外光激励下的荧光光谱特性进行了实验研究。结果表明, 纯甲胺磷溶液在波长 360nm 左右的紫外光激励下能产生较强的荧光, 荧光峰位于 406nm 和 427nm 处; 甲胺磷稀溶液在波长 280nm 左右的紫外光激励下能产生较强的荧光, 荧光峰一个位于 337nm 处, 另一个为谱宽为 620~720nm 的宽谱峰。根据分子光谱理论, 经分析可得, 荧光是由  $-NH_2$  与  $P=O$  形成的  $\pi$  电子结构跃迁而产生的, 稀溶液中的  $-OH$  与  $-H$  对甲胺磷的荧光产生了一定的影响, 使得荧光峰位发生变化。由此对甲胺磷荧光光谱的产生机理和特性作出了解释。

**关键词:** 光谱学; 荧光; 有机磷农药; 分子结构; 食品安全

中图分类号 0433, S482.3

文献标识码 A

## Fluorescence Spectra of Methamidophos

BI Lin-na, CHEN Guo-qing<sup>△</sup>, WANG Jun, ZHU Tuo, GAO Shu-mei

(School of Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Using SP-2558 multifunctional spectrometer system, the spectral characteristic of Methamidophos with different concentrations solution induced by different wavelength UV-light as been experimentally studied with the fluorescence spectra. The results show that a stronger fluorescence can be generated when pure solution of methamidophos is excited by UV light with a wavelength of 360nm and the peak position is located at 406nm and 427nm separately; a stronger fluorescence can be generated when dilute solution of methamidophos is excited by UV light with a wavelength of 280nm, one peak position is located at 337nm and 427nm and the other is a range from 620~720nm. According to the principle of molecular spectroscopy, through analyzing, the fluorescence is generated by the transition of the  $\pi$  electronic structure formed by the  $-NH_2$  and  $P=O$ . The  $-OH$  and  $-H$  have influence on the fluorescence spectra and make change in the fluorescence peaks. Then the characteristic and the mechanism of the fluorescence spectra of methamidophos are explained.

**Key words:** spectroscopy; fluorescence; organophosphorus pesticide; molecular structure; food safety

## 引言

甲胺磷是我国目前产量最大的一种高效、高毒有机磷杀虫螨剂, 对害虫具有触杀、胃毒、内吸和一定的熏蒸作用, 对螨类还有杀卵作用, 具有较高性, 施用在作物、蔬菜、水果上时其残留期比大部分有机磷农药长。食品中甲胺磷残留的

监测对于保障食品安全性十分必要。在应用中, 主要是以乳油对水喷雾。因此, 研究甲胺磷的水溶液以及甲胺磷的残留有实际意义。

目前, 测定甲胺磷方法主要有气相色谱<sup>[1-2]</sup>、高效液相色谱<sup>[3]</sup>、LC-MS<sup>[4]</sup>、酶传感器法<sup>[5-6]</sup>, 这些方法的食品使用成本或者操作要求通常较高, 有必要寻找一种更为简单、低成本的灵敏检测方

\*基金项目: 国家“863”项目(2007AA10Z353)资助  
<sup>△</sup>通讯作者。E-mail: egq2098@163.com

法。

荧光分析法是目前高灵敏的检测方法之一，具有灵敏度高、操作简单、样品量少、分析快速、高分辨率以及对样品无破坏性等优点，应用十分广泛<sup>[7-10]</sup>。至今为止，利用荧光分析法直接检测甲胺磷国内外尚未见报道。

本文首次测得甲胺磷的荧光光谱，并通过荧光和产生与分析子结构的关系分析其产生荧光的机理，为应用荧光光谱分析用于有机磷农药检测提供实验和理论依据。

## 1 实验装置和方法

### 1.1 实验仪器与试剂

实验仪器是美国 Roper Scientific 公司 SP-2558 多功能光谱测量系统。实验试剂为市场流通中的甲胺磷 50%乳油，溶剂为超纯水。

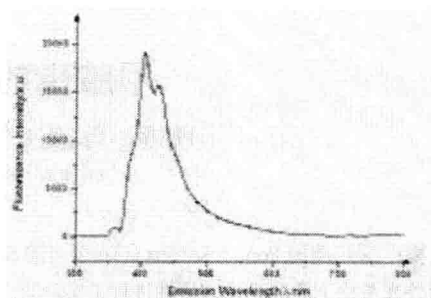
### 1.2 方法

用 SP-2558 多功能光谱测量系统测量不同浓度甲胺磷溶液在不同波长紫外光激励下产生的荧光光谱。具体做法为，将甲胺磷试样盛于本身激发不出荧光的石英比色皿中，置于光谱测量系统样品室中，由 Xe 灯通过激发单色仪获得所选定的 200~600nm 不同波长的紫外光，激励试样，每隔 5nm 激励一次，产生的荧光通过发射单色仪由 CCD 采集，扫描时间为 1s，实时输入计算机，测得光谱图。

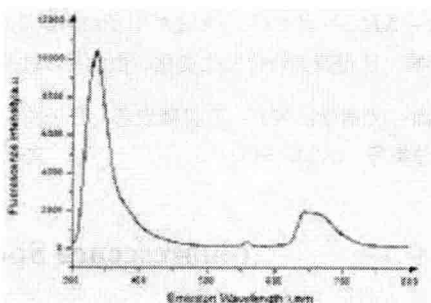
## 2 结果

### 2.1 不同激发波长下，不同浓度的甲胺磷溶液的荧光光谱

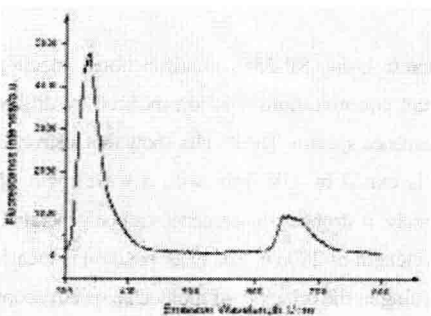
图 1 为不同浓度的甲胺磷溶液的荧光光谱。其中图 1(a)为激发波长为 360nm 时，100%甲胺磷溶液的荧光光谱。406nm 和 427nm 处出现荧光峰，且在此激发光下，发射的荧光光子数最多，为最佳激发波长。图 1(b)为激发波长为 280nm 时，0.02%甲胺磷溶液的荧光光谱。这一波长为最佳激发波长。荧光峰一个位于 436nm 处，另一个为谱宽为 620~720nm 的宽谱峰。图 1(c)为激发波长为 280nm 时，0.0002%甲胺磷溶液的荧光光谱。此波长为最佳激发波长。荧光峰位置与 0.02%甲胺磷溶液的荧光峰位置相同。



(a) 100%



(b) 0.02%



(c) 0.0002%

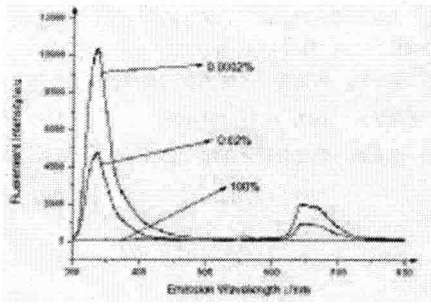
图 1 不同浓度的甲胺磷溶液的荧光光谱

Fig.1 Fluorescence spectra of Methamidophos with different concentrations.

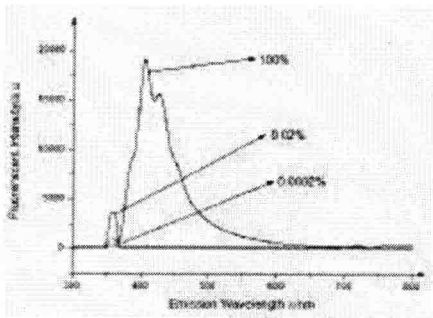
### 2.2 同一激发波长下，不同浓度甲胺磷溶液的荧光光谱比较

图 2 为同一激发波长下，不同浓度甲胺磷溶液的荧光光谱，其中图 2(a)激发波长为 280nm，此时纯甲胺磷溶液无明显荧光而甲胺磷稀溶液有强荧光。图 2(b)激发波长为 360nm，纯甲胺磷溶液有出现，甲胺磷稀溶液基本无荧光产生。





(a)  $\lambda_{ex} = 280nm$



(b)  $\lambda_{ex} = 360nm$

图2 同一激发波长下, 不同浓度甲胺磷溶液的荧光光谱  
Fig.2 Fluorescence spectra of methamidophos with different concentrations in the same excitation wavelength.

### 3 讨论

甲胺磷分子式如图3所示。根据分子光谱理论<sup>[1]</sup>, 在甲胺磷中, “ $P=O$ ”形成一个 $\pi$ 键, 它与氨基相连, 共享了共轭 $\pi$ 电子结构, 扩大了共轭双键体系, 从而会增强荧光强度。

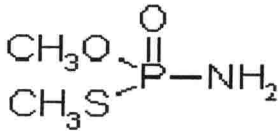


图3 甲胺磷的分子结构

Fig.3 The molecular structure of methamidophos

在100%甲胺磷乳油的荧光光谱中, 在406nm和427nm处出现明显的荧光峰。 $-NH_2$ 与 $P=O$ 形成大 $\pi$ 键成为主要荧光团, 发出的荧光是氧原子外未共享电子对被激发后通过辐射形式跃迁到基态所形成的。

在0.02%和0.0002%甲胺磷乳油水溶液的荧光光谱中在337nm左右处都有明显的荧光峰, 而在406nm和427nm处却几乎没有荧光峰。在甲胺磷的稀溶液中, 由于水中含有大量的 $-OH$ ,  $-OH$ 为给电子取代基, 含有未共享电子对, 增强了与甲基相连的氧原子的荧光强度, 因此, 337nm处的荧光峰的荧光强度显著增强。 $-NH_2$

与大量的 $-H$ 质子化为 $-NH_3^+$ , 荧光强度相应变弱, 因此, 406nm与427nm的荧光峰的荧光强度显著减弱至几乎没有。

### 4 结论

实验发现, 甲胺磷是荧光物质, 纯甲胺磷溶液在波长360nm左右的紫外光激励下能产生较强的荧光, 荧光峰位于406nm和427nm处; 0.02%和0.0002%的甲胺磷溶液在波长280nm左右的紫外光激励下能产生较强的荧光, 荧光峰一个位于337nm处, 另一个是谱宽为620-720nm的宽谱峰。

荧光是由 $-NH_2$ 与 $P=O$ 形成的 $\pi$ 电子结构跃迁而产生的, 稀溶液中的 $-OH$ 与 $-H$ 对荧光产生了一定的影响, 使得荧光峰位发生变化。以上研究丰富了荧光分析理论, 拓宽了荧光光谱的应用领域, 为食品安全检测提供了新思路和新方法。

### 参考文献

- [1] 李继革, 周凯, 戚双祥. 气相色谱法测定蔬菜中10种有机磷农药[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 306-307.
- [2] Luca R, Katia T, Francesco De S. Determination of organophosphorus pesticide residues in client to virgin olive oil by capillary gas chromatography[J]. Food Chem. 2002, 79(3): 303-305.
- [3] Skolink MI. Radar handbook. New York: McGraw-Hill, 1990.
- [4] Hans G J M, Ruud C J van Dam, Odile M Steijger. Determination of polar organophosphorus pesticides in vegetables and fruits using liquid chromatography with tandem mass spectrometry: selection of extraction solvent[J]. J. Chromatogr. A, 2003, 1015(1-2):119-127.
- [5] 高慧丽, 康天放, 王小庆等. 溶胶-凝胶法固定乙酰胆碱酯酶生物传感器测定有机磷农药 [J]. 环境化学, 2005, 24(6): 707-710.
- [6] Gilvanda S N, Thierry M, Paulo Brasil O M, Didier F, Jean L M. Acetylcholine enzyme sensor for determining methamidophos insecticide: evaluation of some genetically modified

- acetylcholinesterases from drosophila melanogaster[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 434(1):1-8.
- [7] 高淑梅, 葛立新, 徐振峰. 三维紫外血浆荧光光谱学特性及机理分析[J]. *光子学报*, 2008, 37(9): 1865-1868.
- [8] He Qing-hang, Zhang Zhen-xi, Yi Chao. 3D fluorescence spectral data interpolation by using IDW [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2008, 71(3): 743-745.
- [9] 陈国庆, 朱拓, 虞锐鹏, 等. 甲醇溶液荧光光谱特性[J]. *光电工程*, 2005, 32(6): 31-34.
- [10] 陈国庆, 吴亚敏, 朱拓等. 乙醚的荧光光谱及其特性[J]. *原子与分子物理学报*, 2007, 21(1): 101-105.
- [11] 陈国珍, 许金钧. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 2006, 18-45.

## 日落黄溶液的荧光光谱特性

王俊, 陈国庆<sup>△</sup>, 高淑梅, 武浩, 毕琳娜

(江南大学理学院, 无锡 214122)

**摘要:** 应用 SP-2558 多功能光谱测验系统对合成食用色素日落黄溶液的荧光光谱进行检测, 测量了日落黄溶液的三维荧光光谱, 及其 10 种不同浓度的二维荧光光谱。实验表明, 在最佳激励波长 348nm 激发下, 浓度为 0.500mg/ml 的日落黄溶液荧光峰位于 583nm; 在浓度 0.010mg/ml-1.000mg/ml 范围内, 峰值荧光强度随浓度的增加先增强后减弱, 且荧光峰位置出现明显红移。经分析认为, 日落黄溶液之所以能产生荧光是因为分子中偶氮键将一个苯环和一个萘环连接在一起, 形成大共轭结构, 并且取代基-SO<sub>3</sub>Na 与-OH 处于萘环的对位, 大大增强了日落黄分子的共轭程度, 使其具有强的吸光功能, 发出强荧光。

**关键词:** 光谱学; 荧光光谱; 光谱分析; 日落黄; 分子结构; 食用色素

中图分类号 0433.4

文献标识码 A

## Fluorescence Spectra of Sunset Yellow and its Characteristic

WANG Jun, CHEN Guo-Qing<sup>△</sup>, GAO Shu-Mei, WU Hao, BI Lin-Na

(School of Science, Jiang-nan University, Wuxi 214122)

**Abstract:** With the Roper Scientific SP-2558 multifunctional spectrometer system, sunset yellow, the synthetic edible pigment's three-dimensional fluorescence spectra is analyzed, and its solutions of 10 different concentrations are measured. The results indicate that the fluorescence of sunset yellow solution at the concentration of 0.500 mg/ml peaks at 583 nm when excited with the best excitation wavelength of 348 nm; at the concentration of 0.010 mg/ml-1.000mg/ml, the fluorescence intensity increases and then weakens with the enhancement of the concentration and apparent red shift. It is considered sunset yellow solution can produce fluorescence because nitric group links a benzene ring and a naphthyl together to form a conjugate structure located at the contraposition of naphthyl in place of the group -SO<sub>3</sub>Na and -OH. It greatly increases the conjugate extent of sunset yellow elements to absorb and give off fluorescence.

**Key words:** spectroscopy; fluorescence spectra; spectral analysis; sunset yellow; molecular structure; edible pigment

### 引言

我国批准使用的食用合成色素有多种, 其中最常用的有胭脂红、苋菜红、柠檬黄、日落黄和亮蓝等, 食用合成色素多为含有 R-N=N-R 键、苯环或氧杂蒽结构化合物, 它们对人体存在一定不安全性或者产生有害作用。

综合国内外的情况可以看到, 在食品中超量, 超范围添加日落黄等色素的现象较为突出。近年来, 人工合成色素的毒性研究越来越受重视, 对于

此, 科学研究人员从紫外分光光度法, 高效液相色谱法, 导数吸附伏安法等方法, 进行了定性、定量的人工合成色素检测研究<sup>[1-3]</sup>。然而, 传统的方法分析过程繁琐, 费时且仪器设备要求较高, 不易推广。分子荧光光谱分析法具有测量精确, 样品量少、高分辨率的特点, 可以根据荧光强度和浓度的对应关系定量检测溶液浓度, 是精确、令人信服的分析方法, 近年来在测定物质方面取得了很好应用<sup>[4-8]</sup>。但在国内外, 至今为止还未见到运用荧光光谱分析法定性表征、定量检测人工合成色素日落黄的报



道。

本文对不同浓度日落黄溶液的荧光光谱进行检测,首先,对日落黄分子结构特征与荧光光谱行性关系进行微观机理上的研究,这对丰富荧光光谱理论的同时也促进对食用色素分子结构的进一步认识;其次,发展了荧光光谱的技术应用,拓展了食用色素的高效、痕量、实时、自动化检测技术;而且通过分子荧光光谱分析研究分子的特点,对开发在化学结构上与天然色素相同的有机色素具有促进作用。

## 1 实验材料、方法

### 1.1 实验仪器和试剂

采用美国 Roper Scientific 公司的 SP-2558 多功能光谱测量系统获得日落黄溶液的荧光光谱。所使用的光源为氙灯,该光束经单色仪系统选定的紫外光照射到样品池中的石英比色皿上,比色皿内盛装被测样品。样品所发射的荧光经单色仪系统再由 CCD 采集信号,最后由计算机进行实时采集和后续处理并输出实验结果。激发单色仪系统中的光栅为每毫米 1200 刻线的闪耀光栅(闪耀波长为 300 nm),发射单色仪中用每毫米 150 刻线光栅(闪耀波长为 500nm)。所用日落黄溶液由国家标准物质研究中心提供,浓度为 1.000mg/ml,以超纯水为溶剂,配成 10 种(0.010mg/ml、0.050mg/ml、0.060mg/ml、0.070mg/ml、0.080mg/ml、0.100mg/ml、0.120mg/ml、0.250mg/ml、0.500mg/ml、1.000mg/ml)不同浓度的溶液。

### 1.2 实验方法

将配制好的 0.500mg/ml 日落黄溶液,用 3ml 可封闭石英比色皿盛放,放入样品池。待仪器启动半小时后,进入正常工作环境开始实验。实验是在 25℃左右室温下进行的。实验参数为:选用每毫米 150 刻线光栅为分光元件,每次扫描时间为 15s,310nm-400nm 每隔 2nm 进行激发,得到 0.500mg/ml 日落黄溶液特征荧光光谱。在上述工作的基础上找出日落黄溶液最佳激发波长,用此激发波长激发其它浓度溶液,获得不同的荧光强度,建立两者之间的联系,便于定量检测。

## 2 实验结果

### 2.1 0.500mg/ml 柠檬黄溶液的荧光光谱

在 310nm-400nm 紫外光激励下,日落黄溶液发射荧光光谱。用 origin 制成其三维立体等角和等高

线荧光光谱,如图 1 所示,在最佳激励波长 348nm 激发下,荧光峰对应的波长在 583nm,荧光相对强度达到 810;另外,从等高线光谱线的疏密程度上可以清晰反映出荧光发射光谱的变化趋势。

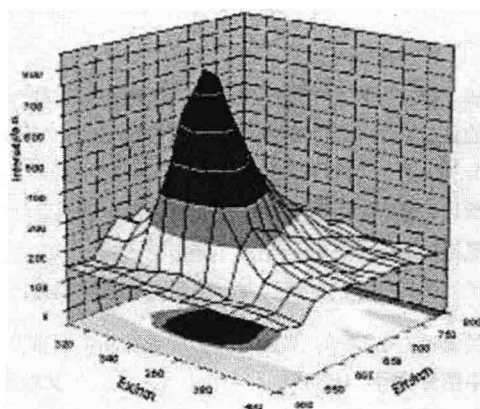


图 1 日落黄溶液的三维立体等角和等高线荧光光谱  
Fig.1 three-dimensional equiangular and contour fluorescence spectra of sunset yellow solution

### 2.2 10 种不同浓度日落黄溶液的二维荧光光谱

用二维荧光光谱对日落黄溶液进行分析。在 330nm-400nm 紫外光激励下,得到最佳激励波长为 348nm。在此我们用 348nm 作为激发光在同样的实验环境下、分别激 0.010mg/ml、0.050mg/ml、0.060mg/ml、0.070mg/ml、0.080mg/ml、0.100mg/ml、0.120mg/ml、0.250mg/ml、0.500mg/ml、1.000mg/ml 浓度的日落黄溶液,得到图 2。

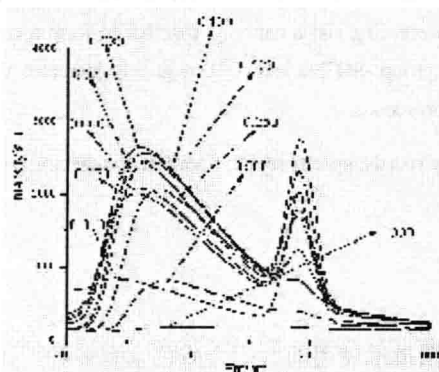


图 2 在 348nm 激发下的不同浓度日落黄二维荧光光谱  
Fig.2 2-dimensional fluorescence spectra of sunset yellow solutions at different concentrations excited at 348nm

可以看到在此浓度范围内,随着浓度的增加,相对荧光强度先增强后减弱,当浓度为 0.080mg/ml

时, 相对荧光强度达到最大。并且, 峰值位置出现明显的红移, 移动范围为 549nm-598nm; 在图中, 右边的尖峰为激发光的二级衍射峰。

### 3 分析与讨论

#### 3.1 产生荧光的原因

由上述实验结果可知, 在波长 330nm-400nm 紫外光激励下, 0.500mg/ml 的日落黄溶液能够吸收光子并发出荧光, 荧光峰值波长为 583nm。因此, 日落黄分子必须有相应的吸收结构, 以吸收光子能量, 如图 3 为日落黄的分子结构图。

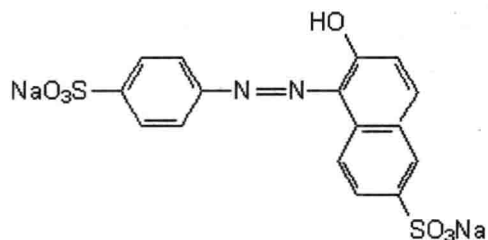


图 3 日落黄的分子结构式

Fig. 3 molecular structure of sunset yellow

该结构式中苯环和萘环经一个偶氮键连接在一起, 形成大共轭结构,  $p$  轨道几乎扩散至整个分子, 但苯环和萘环之间无其他键连接, 分子不易保持平面, 这对荧光的产生起到抑制作用。并且, 苯环最佳激发波长和发射波长分别为 205nm, 278nm, 而萘环为 286nm, 321nm<sup>[9]</sup>, 而日落黄仅吸收大于 310nm 的光波。

经分析认为, 由于萘环上-OH 取代基的存在, 使其激发态常由外环的-OH 的  $n$  电子激发转移到萘环上面产生的。由于它们的  $n$  电子的电子云几乎与萘环上的  $\pi$  轨道成平行, 因而实际上它们共享了共轭  $\pi$  电子结构, 同时扩大了其共轭双键体系, 增大其吸收与发射光谱的波长, 增大了其荧光效率。并且取代基-SO<sub>3</sub>Na 与-OH 处于萘环的对位, 大大增强了日落黄分子的共轭程度, 其原子处在同一平面上, 萘基虽然能在平面外振动, 但电子振荡完全在该平面, 不能引起横的振动, 因此日落黄具有强的吸光能力, 并发出强的荧光。其次, 在浓度较低时, 日落黄分子在溶液中通过氢键缔合在一起相连, 形成较长的链状结构, 这样的链状结构增强了日落黄分子的平面刚性结构, 减小了日落黄分子间互相碰撞的几率, 因而减小了无辐射跃迁, 提高了荧光效率。

#### 3.2 日落黄溶液荧光的饱和与淬灭特性

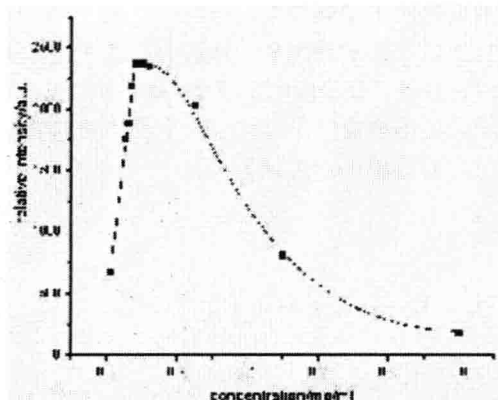


图 4 浓度和荧光峰强度的关系及拟合曲线

Fig. 4 relation and curve of Concentration and fluorescence peak value

根据荧光强度  $F = KI_0\phi(1 - e^{-\epsilon lC})$ <sup>[10]</sup>, 当浓度

增加到一定程度后,  $e^{-\epsilon lC}$  接近于 0, 浓度继续增大, 荧光强度将不再增大。在 348nm 波长的光激发下, 荧光在 583nm 外的强度与浓度的关系如图 4 所示; 随着日落黄溶液浓度的增加, 相对荧光强度先增强后减弱, 当浓度为 0.080mg/ml 时, 溶液对光的吸收达到了饱和, 继续增加日落黄溶液的浓度, 相对荧光强度不增大反而急剧降低, 当浓度为 1.000mg/ml 时, 日落黄溶液的荧光信号基本无法看出。

在低浓度时, 荧光峰值强度与浓度呈现线性增加的关系, 因此对图中前五个点线性拟合得到方程:

$$Y = a(x - b), \text{ 其中:}$$

$$a = 24400.4 \pm 1105.59$$

$$b = -0.01876 \pm 0.00347, R^2 = 0.99388$$

浓度较高时, 荧光发生淬灭, 荧光峰值强度与浓度呈现非线性关系, 对后五个点拟合得到方程

$$Y = 1/[a + bx^{(c-1)}], \text{ 其中:}$$

$$a = 0.00042 \pm 0.08020E - 6$$

$$b = 0.00744 \pm 0.00158$$

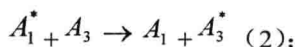
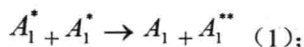
$$c = 4.25 \pm 0.254$$

$$R^2 = 0.99886$$

以上两个方程直观地表现了浓度和荧光峰强

度的关系,为通过测量荧光强度定量检测日落黄溶液的浓度提供了实验依据。

只所以出现这种现象,是因为日落黄溶液浓度较大时,出现了分子间的单重态-单重态淬灭,导致其荧光强度不增反降,(以字母 A 代表日落黄)荧光淬灭主要过程可以表示为:



$A_1^*$  和  $A_3^*$  分别代表 A 的激发单重态和激发三重态分子,从式(1)可以看出,两个激发单重态分子经过碰撞后,最终有一个回到基态,而其能量则以热能或无辐射跃迁形式释放。而式(2)中激发单重态分子与三重态基态分子碰撞后,进行了系间能量转移,在此过程无荧光产生;另外,溶液浓度较高,大部分荧光发射在离开吸收池之前就被吸收,导致检测到的荧光微弱。

### 3.3 日落黄溶液荧光波长红移特性

由图 2 可以看出,随着日落黄溶液浓度的增加,其荧光峰值强度位置表现了不同程度的“红移”,移动范围为 549nm-598nm,以各个浓度的荧光峰值位置为纵坐标,以浓度为横坐标,荧光峰值位置变化趋势如图 5 所示。

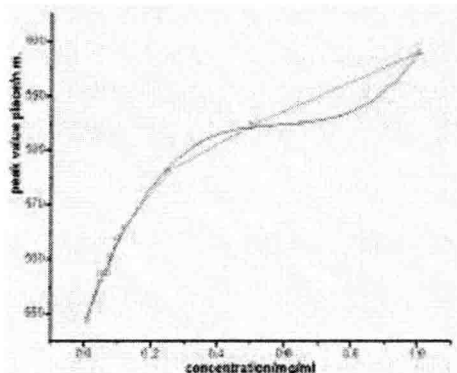


图 5 浓度和荧光峰值位置的关系及线性拟合曲线

Fig. 5 relations and linear curve of Concentration and fluorescence peak position

对图上各点进行拟合得到方程:

$$Y = A + Bx + Cx^2 + Dx^3$$

其中,

$$A = 547.7 \pm 0.86$$

$$B = 181.3 \pm 12.96$$

$$C = -300.9 \pm 36.83$$

$$D = 169.9 \pm 25.17$$

$$R^2 = 0.99686$$

笔者认为,之所以出现如此大范围的红移,这主要是由于不同的荧光团由于荧光效率不同,各自峰值彼此叠加,竞争所导致,从图 2 看到,不同浓度的荧光峰展宽 530nm-660nm 基本不变,因此可以认为存在几个荧光峰值波长位于此范围内的荧光团,浓度不同而荧光效率不同:随着浓度的增大,长波长的荧光团荧光效率增强,导致发射出的光子数增加,相应的长波长的峰值强度增强,因此整个谱峰也向长波长荧光团的峰值位置偏移,所以产生红移现象。另外,在线性范围内激发时,出现了有机物荧光分子对荧光的再吸收也可能导致红移的产生。

## 4 结论

人工合成色素的食品安全问题越来越受到重视,其可食用种类及最大食用量被严格控制,尤其是日落黄等色素超标的现象较为突出。本文运用荧光光谱技术,用三维立体等角和等高线荧光光谱图分析了日落黄溶液的荧光光谱特性,对其荧光产生的机理做了讨论,并且分析了高浓度下激发态分子间的单重态-单重态饱和淬灭特性,以及不同浓度下日落黄溶液的荧光峰值位置的红移特性。本文的研究结果为在食品中对日落黄的定量检测提供了实验基础,并对进一步研究日落黄的分子结构和荧光产生的机理提供了一定的理论依据。

## 参考文献

- [1] 刘冷,李建晴,郭芬,等.紫外分光光度法同时测定柠檬黄和日落黄[J].光谱实验室,2007,24(3):1786-1788;423-427.
- [2] 刘丽珍,徐晓枫,杨剑业,等.高效液相色谱等梯度测定食品中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄[J].医学动物防制,2007,23(2):101-102.
- [3] 白洁玲,金玲,倪永年,导数吸伏安法同时测定柠檬黄及日落黄[J].分析测试学报,1996,15(4):56-58.
- [4] 丁志群,刘文清,张玉钧,等.激光诱导荧光测定水体中溶解有机物浓度[J].光子学报.
- [5] 赵南京,刘文清,崔志成,等.利用特征光谱.荧光标记技术分析水体中溶解有机物的特性[J].光学学报,2005,25(5):687-690.
- [6] 陈国庆,吴亚敏,朱拓,等.乙醚的荧光光谱及其特性[J].原子与分子物理学报,2007,24(1):101-105.
- [7] 兰秀凤,刘莹,刘建刚,等.乙醇溶液的荧光光谱研究[J].光子

- 学报, 2003, 32(11): 1371-1374.
- [8] 朱拓, 陈国庆, 虞锐鹏, 等. 甲醇分子荧光光谱的研究[J]. 光学技术, 2006, 32(1): 11-13.
- [9] 王彦吉, 宋增福. 光谱分析与色谱分析[M]. 北京: 北京大学出版社, 1995: 101.
- [10] 赵南明, 周海梦. 生物物理学[M]. 北京, 高等教育出版社, 海德堡-施普林格出版社, 2000: 297.

## 奶粉—三聚氰胺的荧光光谱特性研究\*

杨成方, 李雷, 张峰, 刘莹<sup>△</sup>

(徐州师范大学物理与电子工程学院, 江苏省徐州市, 221116)

**摘要:** 研究了奶粉、三聚氰胺、奶粉—三聚氰胺混合水溶液的稳态荧光光谱和同步荧光光谱特征。当采用280nm的激励光照射奶粉—水溶液时, 能发射峰值位于330nm的荧光。采用恒波长同步荧光分析技术研究了该混合溶液的光谱特性, 分别改变不同的  $\Delta\lambda(\lambda_{em} - \lambda_{ex})$ , 结果表明当  $\Delta\lambda = 60nm$  时同步荧光强度达到最大; 混合溶液中奶粉的浓度改变时, 其同步荧光强度和浓度间满足线性关系。奶粉和三聚氰胺混合溶液的同步荧光光谱表明当  $\Delta\lambda = 38nm$  时, 奶粉同步荧光峰位位于283nm, 三聚氰胺位于319nm, 奶粉—三聚氰胺混合溶液中两个峰位均存在, 因而可以较好的检验出奶粉中含有三聚氰胺。上述结果能为奶粉中蛋白质的测量和三聚氰胺的检测提供有价值的参考。

**关键词:** 同步荧光光谱; 奶粉; 三聚氰胺; 蛋白质

中图分类号 0433.3

文献标识码 A

## Studies on the Fluorescence Spectral Characteristics of Milk Powder and Melamine

YANG Cheng-Fang, LI Lei, ZHANG Feng, LIU Ying<sup>△</sup>

(College of Physics & Electronic Engineering, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China)

**Abstract:** The steady state fluorescence and synchronous fluorescence spectral characteristics of milk powder, melamine and the mixture of milk powder- melamine are investigated respectively. UV light of 280nm was chosen as the excitation light to irradiate milk powder-water solution and the emission peak at 330nm was observed. The constant-wavelength  $\Delta\lambda(\lambda_{em} - \lambda_{ex} = \text{constant})$  was used in synchronous fluorescence spectrometry. While changing the value of  $\Delta\lambda$ , the synchronous fluorescence intensity of milk powder-water solution altered, and the emission intensity reaches maximum when  $\Delta\lambda$  is 60nm. Scanning the synchronous fluorescence of different milk powder-water solutions with  $\Delta\lambda = 60nm$ , the fluorescence intensity changed and the relationship between the fluorescence intensity and the content of milk power in water solution is linear. When  $\Delta\lambda$  is 38nm, the synchronous fluorescence spectra of milk power, melamine and the mixture of melamine and milk powder was obtained. The experiment result indicated that the synchronous fluorescence peak of milk power was at 283nm, melamine was at 319nm. In the milk powder-melamine solutions, there were two peaks of 283nm and 319nm. By which, one can well distinguish melamine in milk power. The research may contribute to the measurement of protein and the detection of melamine in the milk.

**Keywords:** synchronous fluorescence spectrum; milk melamine prote

\*江苏省科技厅基础研究项目(BK2007204)和江苏省教育厅科研项目(07KJD140208)资助  
<sup>△</sup>通讯作者 E-mail: liuying70@126.com

## 引言

2007 年美国宠物食品污染事件和 2008 年中国婴幼儿奶粉污染事件再次将三聚氰胺的毒性引入公众视野<sup>[1]</sup>。由于食品和饲料工业蛋白质含量测试方法的缺陷, 三聚氰胺常被不法商人用作食品添加剂, 以提升食品检测中的蛋白质含量指标, 因此三聚氰胺也被人称为“蛋白精”。通用的蛋白质测试方法是“凯氏定氮法”, 通过测出含氮量来估算蛋白质的含量<sup>[2]</sup>, 蛋白质主要由氨基酸组成, 平均含氮量为 16% 左右, 而三聚氰胺的含氮量为 66% 左右。因此, 添加三聚氰胺会使得食品的蛋白质测试含量偏高, 从而使劣质食品通过食品检验机构的测试。目前已有不少方法用于蛋白质的测定, 如电泳法<sup>[3]</sup>, 光度法<sup>[4]</sup>, 荧光法<sup>[5]</sup>, 共振瑞利散射法<sup>[6]</sup>等。荧光分析法由于其灵敏度高、干扰少、快速准确、实用性强等优点而在蛋白质定量分析中倍受关注。但国内外测定食物中三聚氰胺含量的方法很少, 一般采用气相-质谱法<sup>[7]</sup>、液相质谱法、液相色谱法<sup>[8,9]</sup>等。

三聚氰胺 (Melamine) 即蜜胺, 又称氰尿酸胺, 是一种白色晶体, 熔点为 354 °C<sup>[10]</sup>, 普遍认为三聚氰胺毒性轻微, 基本上没有毒性。但是三聚氰胺的衍生物——三聚氰酸具有毒性, 两者紧密结合会形成不溶于水的网格结构。摄入人体后由于胃酸的作用三聚氰胺和三聚氰酸相互解离并被分别通过小肠吸收进入血液循环并最终进入肾脏。在肾细胞中两者再次结合沉积从而形成肾结石, 堵塞肾小管, 最终造成肾衰竭。由于三聚氰胺结石微溶于水, 对于成年人, 由于经常喝水使得结石不容易形成。但对于哺乳期的婴儿, 由于喝水很少并且相比成年人肾脏狭小, 造成更容易形成结石。

同步荧光光谱法是研究混合荧光物质有效的方法之一。与稳态荧光法相比同步荧光法具有灵敏度高、选择性好、散射光影响小等优点<sup>[11]</sup>。本文通过对奶粉的稳态荧光光谱和同步荧光光谱以及含有三聚氰胺奶粉的同步荧光光谱的研究发现, 同步荧光光谱除上述特点外, 其峰值与浓度有着很好的线性关系, 能灵敏地分辨出奶粉和三聚氰胺混合溶液中蛋白质和三聚氰胺的光谱。研究结果能为奶粉中蛋白质的含量的测量及三聚氰胺的检测提供理论依据。

## 1 实验仪器和方法

### 1.1 实验装置和仪器

实验使用英国 Edinburgh Instruments 公司生产的 FLS920 型稳态和瞬态时间分辨荧光光谱仪, 其中光源为波长连续可调的氙灯, 经激发单色仪精确选择激发光, 发射谱扫描区间为 300-470nm。上海安亭科学仪器厂生产的 TGL-16C 型高速台式离心机用于离心奶粉溶液。

### 1.2 实验样品和方法

实验样品为三聚氰胺、双城雀巢有限公司生产的雀巢全脂奶粉和三次蒸馏水。奶粉水溶液中奶粉按质量百分比进行配制, 分别为 0.00001—0.01g/ml。配制好的奶粉水溶液去除表层油脂, 然后在离心机上离心 10 分钟后取上清液, 放入 3ml 的石英比色皿中。采用恒定波长差值进行波长同步荧光扫描。

## 2 实验结果与分析

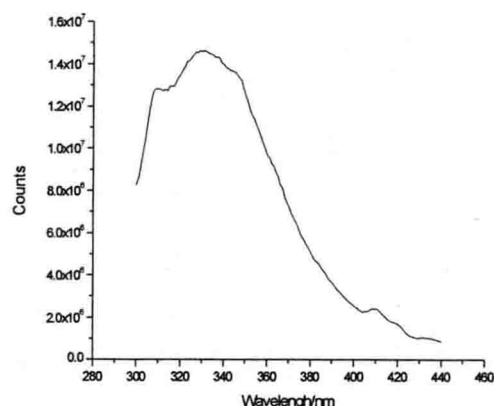


图 1 奶粉的稳态荧光光谱图

Fig. 1 the fluorescence spectrum of milk

### 2.1 奶粉的稳态和同步荧光光谱

采用 280nm 的激发光照射奶粉的水溶液, 在 300~440nm 的范围内扫描其发射光谱, 得到奶粉中蛋白质稳态荧光光谱如图 1 所示, 其同步荧光光谱如图 2 所示。从图中可以看出蛋白质的稳态荧光光谱的谱峰较宽, 发射范围从 300nm 至 400nm, 其中含有多个峰值, 即 305nm, 330nm 和 350nm。分析认为当采用紫外光照射奶粉溶液时, 其中的蛋白质吸收入射光并向外发射荧光。由于蛋白质中氨基酸的种类较多, 但是有内源荧



光的氨基酸只有色氨酸 (Trp)、酪氨酸 (Tyr)、苯丙氨酸 (Phe), 其中 Trp 的荧光强度最大, Tyr 次之, Phe 最小。因为蛋白质的荧光通常在 280 nm 或更长的波长被激发, Phe 在绝大多数实验条件下不被激发, 所以很少能观察到 Phe 的发射谱。这样蛋白质的内源荧光主要来自 Trp 和 Tyr 残基。Trp 残基对微环境的变化很敏感, 并且大多数蛋白质都含有几个不同的 Trp 残基, 因而常作为内源荧光探针来研究溶液状态下蛋白质的构象。从图 1 可以看出蛋白质的谱峰宽度从 300nm 到 360nm, 这正是 Trp 和 Tyr 竞争从而产生了重叠的结果。

从实验结果和分析可以看出, 普通的稳态荧光光谱很难精确分析物质的结构, 而且不容易得出荧光峰值和浓度之间的关系。而同步荧光光谱的峰值就比较尖锐, 且只有唯一峰位。实验中用同步荧光更容易找出奶粉的浓度和荧光强度之间的关系。从而可以为奶粉中的蛋白质的含量的测定提供理论上的参考。

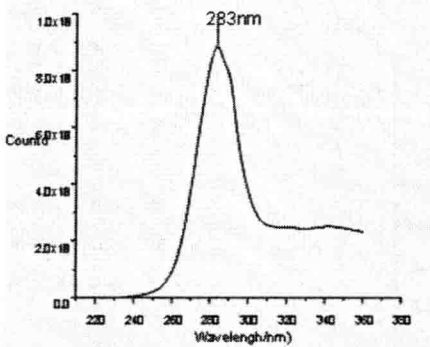


图 2  $\Delta\lambda = 38nm$  奶粉的同步荧光光谱

Fig. 2 the synchronous fluorescence spectrum of milk powder when  $\Delta\lambda = 38nm$

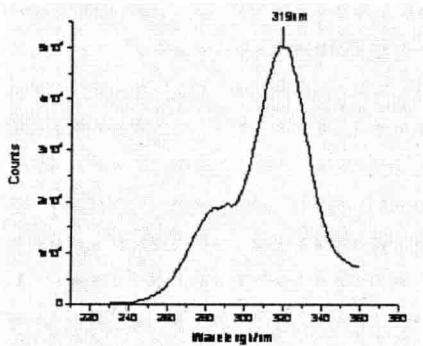


图 3  $\Delta\lambda = 38nm$  三聚氰胺的同步荧光光谱

Fig. 3 the synchronous fluorescence spectrum of melamine when  $\Delta\lambda = 38nm$

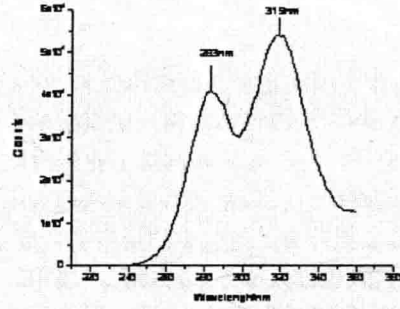


图 4  $\Delta\lambda = 38nm$  含三聚氰胺奶粉的同步荧光光谱  
Fig. 4 the synchronous fluorescence spectrum of the mixture of melamine and milk powder when  $\Delta\lambda = 38nm$

## 2. 2 含三聚氰胺奶粉的荧光光谱特征

利用同步荧光进行扫描, 当  $\Delta\lambda = 38nm$  时, 奶粉的同步荧光光谱如图 2 所示, 三聚氰胺的同步荧光光谱如图 3 所示, 而含三聚氰胺奶粉的同步荧光光谱如图 4 所示。从三幅同步荧光光谱图可以看出, 奶粉的同步荧光峰位在 283nm 处, 三聚氰胺的同步荧光峰位在 319nm 处, 含三聚氰胺奶粉的同步荧光含有两个峰位, 分别位于 283nm 和 319nm。因而同步荧光光谱能够很好的分辨出奶粉和三聚氰胺。

## 3 结论

实验中用紫外光照射奶粉水溶液及其与三聚氰胺的混合溶液, 分别获得稳态和同步光谱, 得到以下结论:

激励光为 280nm 时, 奶粉中的蛋白质吸收了入射光并向外发射荧光, 发射谱的范围为 300-400nm, 峰值分别位于 305nm, 330nm, 350nm, 并对其发射荧光的机制进行了分析;

得到了奶粉水溶液的恒定波长同步荧光光谱, 改变  $\Delta\lambda$  时发现, 当  $\Delta\lambda = 60nm$  时同步荧光的强度达到最大值;

分析奶粉和三聚氰胺的混合溶液的同步荧光光谱, 选择  $\Delta\lambda = 38nm$  时, 可以精确地检验出奶粉中是否含有三聚氰胺。

文中采用灵敏的荧光光谱和同步荧光光谱分析技术研究了奶粉、奶粉-三聚氰胺的光谱特性, 结果能为奶粉中蛋白质的含量的测量及三聚氰胺的检测提供理论依据, 相关的后续理论研究仍在进行中。

## 参考文献

- [1] Lili He, Yang Liu, Mengshi Lin, Joseph Awika, David R. Ledoux, Hao Li and Azlin Mustapha. A new approach to measure melamine, cyanuric acid, and melamine cyanurate using surface enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanosubstrates. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2008.
- [2] 张亚飞, 乐国伟, 施用晖, 等. 小麦蛋白 Alcalase 水解物免疫活性肽的研究[J]. *食品与机械*, 2006, 22(3): 44-46.
- [3] 张宁, 唐轶, 郝冬梅, 等. 应用毛细管区带电泳测定人血清蛋白[J]. *色谱* 1999, 17(6): 593-595.
- [4] 赵长容, 刘保生, 张红医. 酸性棕 SR 分光光度法测定血清白蛋白[J]. *光谱与光谱分析*, 2005, 25(1): 92-94.
- [5] Ma Chunqi, Li Kean, Tong Shenyang. Determination of proteins by fluorescence quenching of erythrosin B. *Anal. Chim. Acta*, 1996, 333(122): 83-88.
- [6] Feng Ningchuan, He Suping, Zhang Juan, *et al.* Resonance Light Scattering Study on Interaction of Solochrome Cyanine R with Protein and Light Scattering Determination of Trace Protein [J], *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, 24(2): 194-196.
- [7] GC-MS Scern for the Presence of Melamine and Cyanuric Acid[S]. FDA/ORA Forensic Chemistry Center SOP T015, 2007.
- [8] Update FCC Developmental Melamine Quantitation (HPLC-UV)[S]. FDA/ORA Forensic Chemistry Center SOP, 2007.
- [9] 吴明礼, 陈彩虹. 高效液相色谱法(HPLC)测定单氰胺中三聚氰胺的含量. *宁夏石油化工*, 2005(2): 24-26.
- [10] 王箴. 化工词典(第四版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 3. 许金钧, 王金尊主编. 荧光分析法第三版[M]. 北京: 科学出版社, 2006.137-139.

## 饱和脂肪酸—乙醇溶液荧光光谱特性研究\*

赵文艳, 杨成方, 李雷, 刘莹<sup>△</sup>

(徐州师范大学物理与电子工程学院, 江苏省徐州市, 221116)

**摘要:** 研究了紫外光激励饱和脂肪酸—乙醇溶液的荧光光谱特征, 得到了光谱特征参数随激发光波长和溶液中饱和脂肪酸体积百分比改变的变化规律, 分析了荧光产生机理。结果表明, 饱和脂肪酸—乙醇溶液能发射明显的荧光, 其峰位为 327nm 和 401nm, 分别对应最佳激励光波长为 293nm 和 309nm。327nm 荧光峰的强度随激发光波长呈高斯分布; 固定激发光照射溶液时, 伴随体积比的增加, 荧光强度先是增强, 后发生浓度猝灭, 强度减弱。研究结果能为饱和脂肪酸的结构分析与食用价值研究提供参考。

**关键词:** 荧光; 饱和脂肪酸; 高斯分布; 荧光猝灭

中图分类号 0433.3

文献标识码 A

## Studying on the Fluorescence Spectral Characteristics of Saturated Fatty Acids-Alcohol Solution

ZHAO Wen-Yan<sup>1</sup>, YANG Chen-Fang<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>

(College of Physics & Electronic Engineering, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China)

**Abstract:** The fluorescence spectral characteristics of saturated fatty acid—ethanol solution excited by UV light was studied in detail. The change rule of the fluorescence spectral parameters along with the excitation light and the concentration was obtained too. There were two obvious fluorescence peaks located at 327nm and 401nm, and the optimal excitation wavelength of them was 293nm and 309nm, respectively. The fluorescence intensity of 327nm ( $I_{em=327nm}$ ) appeared the Gaussian distribution with the wavelength of the excitation light.  $I_{em=327nm}$  was enhanced when the saturated fatty acid content changing from 1% to 7%, and then the intensity decreased. At last the emission mechanism was analyzed in theory. It can provide reference for analyzing the structure and studying the edible value of saturated fatty acid.

**Keywords:** fluorescence; saturated fatty acid; Gaussian distribution; fluorescence-quenching

## 引言

目前危害人类生命和健康的最危险的疾病为心脑血管疾病<sup>[1]</sup>, 血脂异常是心脑血管病最主要的危险因素<sup>[2]</sup>, 而血脂异常大多是脂肪酸摄入不均衡所致。日常摄入脂肪酸含有单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸。多数的脂肪酸对人体是有益的, 但如果食用过多或食用方式不当也会对人体健康有所影响<sup>[3]</sup>。脂肪酸根据是否含有—C=C—双键又可分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸, 其中不饱和脂肪酸又可分为单不饱和脂肪酸(仅含有一个

—C=C—双键)和多不饱和脂肪酸。一般动物油脂都是饱和脂肪酸, 其具有易吸收的优点, 但饱和脂肪酸中的“低密度脂蛋白胆固醇”及“甘油三脂”是导致高血压, 冠心病和动脉粥样硬化的主要成分<sup>[4,6]</sup>。因而如何正确食用脂肪酸特别是饱和脂肪酸显得尤其重要。

物质的微观结构决定了物质的基本特性, 进而引起光谱特征的变化, 关于饱和脂肪酸光谱特性的研究至今在荧光光谱技术分析领域还没有相关的文献报导, 因而本文利用灵敏的荧光光谱分析技术研究了饱和脂肪酸—乙醇的光谱特性, 通过寻找其

\*江苏省科技厅基础研究项目(BK2007204)和江苏省教育厅科研项目(07KJD140208)资助

<sup>△</sup>通讯作者 E-mail: liuying70@126.com